

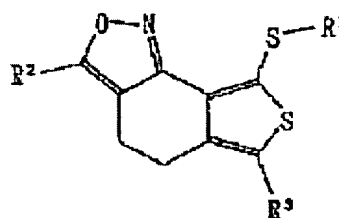
ENHANCER FOR ACTION OF CELL DIFFERENTIATION-INDUCING FACTOR

Patent number: JP8245386
Publication date: 1996-09-24
Inventor: FUJISAWA YUKIO
Applicant: TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD
Classification:
- international: **A61K31/42; C07D498/04; A61K31/42; C07D498/00;**
(IPC1-7): A61K31/42; A61K31/42; C07D498/04
- european:
Application number: JP19950049423 19950309
Priority number(s): JP19950049423 19950309

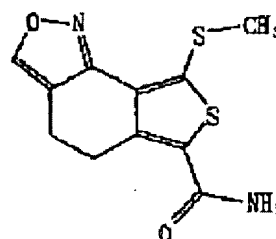
[Report a data error here](#)

Abstract of JP8245386

PURPOSE: To obtain an enhancer, containing a specific condensed thiophene derivative and useful for prevention, treatment, etc., of osteopathy such as osteoporosis or fracture and neuropathy such as Alzheimer disease, cerebrovascular dementia, amyotrophic lateral sclerosis or diabetic peripheral neuropathy.
CONSTITUTION: This derivative of formula I [R<1> is a lower alkyl; R<2> is H or a lower alkyl; R<3> is a (esterified or amidated) carboxyl] e.g. [4,5- dihydro-8-(methylthio) isoxazolo[5,4-d]benzo[c]thiophene-6-carboxamide of formula II]. The daily dose thereof is 0.1-500mg (preferably 1-50mg) for an adult and the derivative of formula I is a low toxic substance.



I



II

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-245386

(43)公開日 平成8年(1996)9月24日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/42	A D T		A 6 1 K 31/42	A D T
	A A M			A A M
	A A P			A A P
	A B J			A B J
	A D D			A D D
審査請求 未請求 請求項の数 1 O L (全 7 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号	特願平7-49423	(71)出願人	000002934 武田薬品工業株式会社 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
(22)出願日	平成7年(1995)3月9日	(72)発明者	藤沢 幸夫 兵庫県神戸市東灘区御影中町4丁目1番31-104号
		(74)代理人	弁理士 朝日奈 忠夫 (外2名)

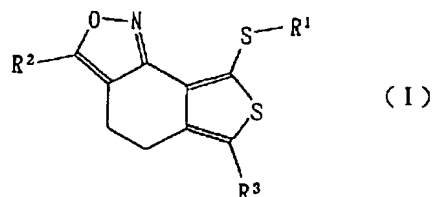
(54)【発明の名称】 細胞分化誘導因子作用増強剤

(57)【要約】

【目的】細胞分化誘導因子の作用増強剤を提供する。

【構成】一般式 (I)

【化1】



〔式中、R¹ は低級アルキル基を、R² は水素または低級アルキル基、R³ はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を示す〕で表される縮合チオフェン誘導体を含有してなる細胞分化誘導因子作用増強剤。

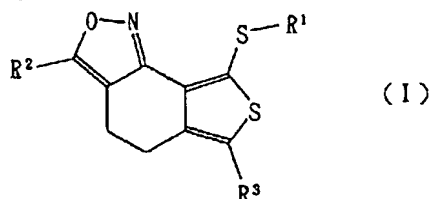
【効果】上記細胞分化誘導因子作用増強剤は、例えば強いBMP作用増強活性、骨形成促進活性および神経栄養因子作用増強活性を有するため、種々の骨疾患もしくは神経性疾患の治療および予防に用いることができる。

1

【特許請求の範囲】

一般式 (I)

【化1】



【式中、R¹ は低級アルキル基を、R² は水素または低級アルキル基、R³ はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を示す】で表される縮合チオフェン誘導体を含有してなる細胞分化誘導因子作用増強剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、骨粗鬆症または骨折などの骨疾患の治療および予防、骨再建、またはアルツハイマー病、脳血管性痴呆、筋萎縮性側索硬化症（ロウ・ゲリッヒ病）、糖尿病性の末梢神経障害（ニューロパシー）などの神経性疾患の治療および予防に有効な細胞分化誘導因子作用増強剤に関する。

【0002】

【従来の技術】骨形成因子（bone morphogenetic protein, BMP）は、脱灰骨から単離された異所性の骨誘導能を有することが知られている唯一の蛋白因子群である。従って、骨折治癒や骨再建などにおける骨形成促進薬として有用である（A. E. Wang, トレンズ・イン・バイオテクノロジー（Trends Biotechnol.）, 11巻, 379-383頁（1993））。また、BMPは骨芽細胞の分化を直接促進することから、骨リモデリングにおけるカップリング・ファクターとしての役割が想定されており、骨代謝との密接な関わりがあると考えられる。また、老齢動物における骨基質中のBMP含量は相当低下していることが報告されており（M. L. Urist, ボーン・アンド・ミネラル・リサーチ（Bone and Mineral Research）, 6巻（ed by W. A. Peck）, 57-112頁, Elsevier, 1989）、骨量の維持にBMPが深く関与していると考えられる。このことは、BMPが骨粗鬆症などの様々な骨疾患に対する治療薬として有望であることを示唆している。しかし、BMPは生体内には通常微量しか存在せず、その供給源が限られていること、またBMPは蛋白質であることから投与する場合問題があり、適用できる対象疾患はごく限られている。

【0003】さらに、BMPは神経栄養因子様の活性を有することが報告されている（V. M. Paralkarら、ジャーナル・オブ・セル・バイオロジー（J. Cell Biol.）, 119巻, 1721-1728頁（1992））。また、脳組織には、BMP遺伝子の強い発現が知られている（E. Ozkaynakら、バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーション（Biochem. Biophys. Res. Commu-

2

n.）, 179巻, 116-123頁（1991））。また、BMPが胚発生時の神経管形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている（K. Baslerら、セル（Cell）, 73巻, 687-702頁（1993））。従って、BMPは神経細胞の分化あるいは機能維持に深く関与していると考えられる。

【0004】神経栄養因子（neurotrophic factor）は神経細胞の生存維持および機能発現において重要な役割を担っている一群の蛋白性因子で、神経成長因子（nerve growth factor: NGF）、脳由来神経栄養因子（brain-derived neurotrophic factor: BDNF）、ニューロトロフィン3（neurotrophin-3: NT-3）などがある。NGFは、末梢神経系では神経冠の交感神経節細胞（sympathetic ganglion）および脊髄後根神経節細胞（dorsal root ganglion）の分化・成熟を促進し（A. M. Davies & R. M. Lindsay, ディベロップメンタル・バイオロジー（Dev. Biol.）, 111巻, 62-72頁（1985）; R. Levi-Montalcini, エンボ・ジャーナル（EMBO J.）, 6巻, 1145-1154頁（1987））、中枢神経系では中隔野（前脳基底核）のコリン作動性神経細胞（cholinergic neurons of septa）に作用する（H. Gnahnら、ディベロップメンタル・ブレイン・リサーチ（Dev. Brain Res.）, 9巻, 45-52頁（1983）; H. Hatanaka & H. Tsukui, Dev. Brain Res., 30巻, 47-56頁（1986）; F. Hefti, ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス（J. Neurosci.）, 6巻, 2155-2162頁（1986））。NGFは神経細胞の分化が完了した後も神経機能を維持するために必要である。BDNFは、末梢神経系では脊髄後根神経節細胞や節状神経節細胞に対して作用するが、交感神経節細胞には作用しない（R. M. Lindsay & H. Rohrer, Dev. Biol., 112巻, 30-48頁（1985）; R. M. Lindsayら, Dev. Biol., 112巻, 319-328頁（1985）; A. M. Daviesら, J. Neurosci., 6巻, 1897-1904頁（1986））。一方、中枢神経系では中隔野のコリン作動性神経細胞やギャバ（GABA: γ -aminobutyric acid）作動性神経細胞、および中脳のドーパミン作動性神経細胞（dopaminergic neurons of midbrain）に作用する（R. F. Aldersonら、ニューロン（Neuron）, 5巻, 297-306頁（1990）; C. Hymanら、ネイチャー（Nature）, 350巻, 230-232頁（1991）; B. Knuselら、プロシーディング・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンシーズ・オブ・ザ・ユナイテッド・ステイツ・オブ・アメリカ（Proc. Natl. Acad. Sci. USA）, 88巻, 961-965頁（1991））。NT-3は、末梢神経系ではNGFやBDNFと重なるが、神経板由来の知覚神経細胞に強い作用を示すのが特徴である（P. Ernforsら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87巻, 5454-5458頁（1990）; A. Rosenthalら, Neuron, 4巻, 767-773頁（1990））。しかし、NT-3に応答する中枢神経系の神経細胞はまだ知られていない。

【0005】アルツハイマー型痴呆症は、中隔野を含む前脳基底核のコリン作動性神経細胞の変性・脱落以外に

3

も、大脳皮質神経細胞の広範な障害・脱落が認められており、NGFや新しい栄養因子もその治療薬の一つの候補と考えられている [P. Hefti & W. J. Weiner, アニュアル・ニューロロジー (Annu. Neurol.), 20巻, 275-281頁 (1986)]。また、脳の中脳ドーパミン作動性神経細胞が変性脱落する疾患であるパーキンソン病には、その神経細胞に対する栄養因子であるBDNFに治療薬としての期待がある。しかし、これら神経栄養因子は蛋白質であるため、その適用には限界がある。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 上述の点からみて、例えば、BMPの作用を増強する化合物であれば、生体内に存在するBMPまたは生体に投与されたBMPの作用を強めることができ、上記のような骨疾患治療薬として有用である。そのようなBMP作用増強活性を有する物質は、現在までに報告のあるものとして、レチノイン酸、ビタミンD3、エストロゲン、およびグルココルチコイドがある [V. Rosen & R. S. Thies, トレンズ・イン・ジェネティックス (Trends Genet.), 8巻, 97-102頁 (1992); Y. Takuwaら, バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーション (Biochem. Biophys. Res. Commun.), 174巻, 96-101頁 (1991)]。しかし、これらの物質は体内に投与した場合、骨吸収を促進したり、高カルシウム血症や卵巣ガンの発生などの副作用が知られており、骨疾患治療薬として必ずしも適当ではない。

【0007】 一方、例えばNGFの作用を増強する化合物であれば、生体内に存在するNGFまたは生体に投与されたNGFの作用を強めることができ、前述のような抗痴呆薬や抗末梢神経傷害薬として有用である。そのような作用を有する物質としては、サベルゾール [sabeluzole, 4-(2-Benzothiazolyl)methyl-amino)- α [(p-fluorophenyl)methyl]-1-piperidineethanol] が報告されている [ニュー・カレント (New Current), 第4巻26号, 14頁 (1993年)] が、その作用機構については未だに解明されておらず、臨床試験において、頭痛、めまい、疲労感などの副作用が認められており、神経性疾患治療薬として必ずしも適当ではない。また、NGFの分泌誘導作用を有する化合物として、ステロイド類、カテコール類およびサイトカイン類の報告があり [エクスペリメンタル・ニューロロジー (Experimental Neurology), 124巻, 36-42頁 (1993)]、特開平3-81218号公報にはイデベノンの報告がある。しかし、これらの化合物は、神経毒性を有するもの、あるいは免疫力の低下、高カルシウム血症、骨吸収の促進など好ましくない作用を有するものがあり、NGF分泌誘導作用と神経系以外の組織への悪影響とは必ずしも分離できないのが現実であり、実用には十分満足できるものではない。さらに、BMPまたは神経栄養因子に代表される細胞分化誘導因子は蛋白質であるため、生体への投与においては限界がある。そこで、生体

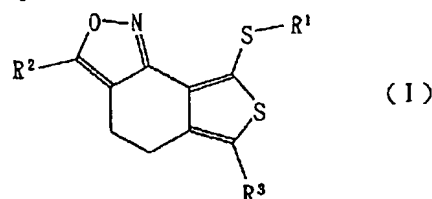
4

内に存在する細胞分化誘導因子または生体内に投与された細胞分化誘導因子の作用を増強する化合物として、低分子のものが好ましい。上述のような状況に鑑みて、本発明は、BMPまたは神経栄養因子に代表される細胞分化誘導因子の作用を増強する低分子化合物を見だし、種々の骨疾患または神経性疾患の治療および予防に有用な細胞分化誘導因子作用増強剤を提供しようとするものである。

【0008】

10 【課題を解決するための手段】 本発明者らは、かかる技術背景のもとに、BMPや神経栄養因子による骨芽細胞や神経細胞の分化を特異的に増強する薬物の開発を目的とし、細胞分化誘導因子の作用を増強する低分子化合物を探索すべく鋭意研究を進めた結果、下記的一般式 (I) で表される縮合チオフェン誘導体に、BMPや神経栄養因子の作用を増強する優れた活性のあることを初めて見だし、本発明を完成するに至った。

【0009】 すなわち、本発明は、(1) 一般式 (I) 【化2】



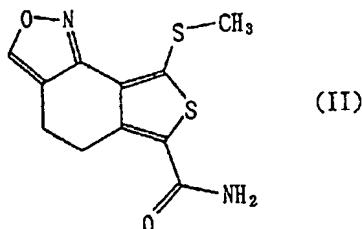
〔式中、R¹ は低級アルキル基を、R² は水素または低級アルキル基、R³ はエステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基を示す〕で表される縮合チオフェン誘導体を含有してなる細胞分化誘導因子作用増強剤であり、さらに詳しくは、(2) R¹ がメチル基、R² が水素およびR³ がカルバモイル基である上記(1)記載の作用増強剤、(3) 細胞分化誘導因子が、骨形成因子である上記(1)記載の作用増強剤、(4) 細胞分化誘導因子が、神経栄養因子である上記(1)記載の作用増強剤、(5) 神経栄養因子が、NGFファミリーに属するものである上記(4)記載の作用増強剤、(6) 上記(1)記載の化合物またはその医薬として許容される塩を含有してなる骨疾患用医薬、および、(7) 上記(1)記載の化合物またはその医薬として許容される塩を含有してなる神経性疾患用医薬である。

【0010】 本発明に用いられる一般式 (I) で表される縮合チオフェン誘導体は、前述のBMPまたはNGFの作用増強活性を有する物質とは構造的に全く異なるものである。一般式 (I) で表される縮合チオフェン誘導体として、例えば、メイブリッジ (Maybridge) 社 (住所: Trevillet, Tintagel, North Cornwall, PL34 0HW, 英国) から頒布されている同社の製品カタログ (第241巻, 1991年10月出版) に記載され、同社から入手可能な公知化合物 (II) [4,5-ジヒドロ-8-(メチルチオ)イソキサゾロ (5,4-d) ベンゾ(c)チオフェン-6-カルボキ

5

サミド、4,5-dihydro-8-(methylthio)isoxazolo[5,4-d]benzo[c]thiophene-6-carboxamide (構造式下記) が挙げられる。

【化3】



【0011】上記式中、 R^1 で表される「低級アルキル基」としては、炭素数1～6の、好ましくは炭素数1～4の飽和脂肪族炭化水素など(例、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチルなどの C_{1-4} アルキル基など)が例示され、とりわけ、メチル基がより好ましく挙げられる。 R^2 で表される「低級アルキル基」としては、 R^1 で表される低級アルキル基として例示したものと同様のものが挙げられる。 R^2 としては、水素がより好ましく挙げられる。 R^3 で表される「エステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基」の「エステル化されていてもよいカルボキシル基」としては、例えば、一般式 $-COOR^4$ [R^4 は C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニルまたは C_{6-10} アラルキルなどを示す]で表される基が挙げられる。例えば、カルボキシル基と炭素数1～6のアルキル基の結合したものとしては、 C_{1-6} アルコキシカルボニル(例、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、プロポキシカルボニル、イソプロポキシカルボニル、ブトキシカルボニル、イソブトキシカルボニル、sec.-ブトキシカルボニル、tert.-ブトキシカルボニル、ペンチルオキシカルボニル、ヘキシルオキシカルボニルなど)などが、カルボキシル基と炭素数2～6のアルケニル基の結合したものとしては、 C_{2-6} アルケニルオキシカルボニルなど(例、アリル(allyl)オキシカルボニル、クロチルオキシカルボニル、2-ペンテニルオキシカルボニル、3-ヘキセニルオキシカルボニルなど)が、カルボキシル基と炭素数6～10のアラルキル基の結合したものとしては、 C_{6-10} アラルキルオキシカルボニルなど(例、ベンジルオキシカルボニル、フェネチルオキシカルボニルなど)が挙げられる。 R^3 で表される「エステル化またはアミド化されていてもよいカルボキシル基」の「アミド化されていてもよいカルボキシル基」としては、例えば、カルバモイル、メチルアミノカルボニル、エチルアミノカルボニル、ジメチルアミノカルボニル、N-メチル-エチルアミノカルボニル、ピルブアミノカルボニル、ピペリジノカルボニル、1-ピロリジニルカルボニル、ベンジルアミノカルボニルなどが挙げられ、とりわけ、カルバモイルがより好ましく挙げられる。本発明に用いられる式(I)で表される縮合

6

チオフェン化合物は、前述のメイブリッジ(Maybridge)社の製品カタログ記載の公知化合物、例えば、エチル-4-メトキシミノ-3-メチルチオ-4,5,6,7-テトラヒドロベンゾ[C]チオフェン-1-カルボキシレートなどを原料として、公知の化学反応、例えば加水分解反応、エステル化反応、アミド化反応、オキシム化反応、O-またはS-アルキル化反応、縮合反応などの反応を必要に応じて適宜組み合わせることで行い、合成することができる。

10 【0012】本発明で対象とする細胞分化誘導因子としては、骨形成因子、神経栄養因子、腫瘍増殖因子(TGF)- β またはアクチビンなどのTGF- β スーパーファミリーに属する因子、塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)または酸性繊維芽細胞増殖因子(aFGF)などのFGFスーパーファミリーに属する因子、白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor; LIF、またはcholinergic differentiation factor; CDFと呼ぶこともある)またはシリアリー・ニューロトロフィック・ファクター(ciliary neurotrophic factor; CNTF)などのニューロポイエティック・サイトカイン・ファミリー(neuropoietic cytokine family)に属する因子、インターロイキン-1(IL-1、以下同様に略記する)、IL-2、IL-3、IL-5、IL-6、IL-7、IL-9、IL-11、腫瘍壊死因子- α (TNF- α)、インターフェロン- γ (INF- γ)など骨芽細胞や神経細胞のように特定の組織において生体機能を維持する細胞が未分化な前駆体から分化する過程に特徴的な形質を誘導する因子が挙げられ、好ましくは骨形成因子または神経栄養因子が挙げられる。骨形成因子としては、骨形成および軟骨形成を促進させる蛋白質であるBMP-2、-4、-5、-6、-7、-8、-9、-10、-11、-12などのBMPファミリー、とりわけBMP-2、-4、-6、-7が挙げられる。BMPは上記に挙げた因子のそれぞれのホモ二量体または可能なすべての組み合わせによるヘテロ二量体であってもよい。神経栄養因子としては、神経成長因子(nerve growth factor: NGF)、脳由来神経栄養因子(brain-derived neurotrophic factor: BDNF)およびニューロトロフィン3(neurotrophin-3: NT-3)などが挙げられ、好ましくはNGFファミリーが挙げられる。

【0013】本発明の一般式(I)で表される縮合チオフェン誘導体を含有してなる細胞分化誘導因子作用増強剤は、単独でまたは細胞分化誘導因子作用を有する物質、例えばBMPや神経栄養因子と併用して、骨折治癒促進、骨再建促進、骨粗鬆症など種々の骨疾患の治療および予防に、また、脳血管性痴呆、老年性痴呆もしくはアルツハイマー病などにおける神経退行性疾患、筋萎縮性側索硬化症(ロウ・ゲーリッヒ病)または糖尿病性の末梢神経障害(ニューロパシー)など種々の脳機能障害もしくは神経性疾患の治療および予防に用いることができる。さらに、BMPや神経栄養因子などが、前述の生体内で果たす役割以外に、これらの作用を増強することによって病態が改善される疾患にも、本発明の細胞分化誘

導因子作用増強剤は、治療薬および予防薬として用いることが期待できる。本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤は、ヒトはもちろん、その他の哺乳動物（例、マウス、ラット、ウサギ、犬、猫、牛、豚など）の上記疾患に適用することもできる。本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤をヒトに投与する場合、投与方法は、経口的、非経口的いずれのルートによってもよい。経口投与する場合の剤形としては、固体または液体の剤形、具体的には錠剤（糖衣錠、フィルムコーティング錠を含む）、顆粒剤、散剤、カプセル剤（ソフトカプセル剤を含む）、シロップ剤、乳剤または懸濁剤などが挙げられる。かかる製剤は、自体公知の方法によって製造され、製剤分野において通常用いられる担体もしくは賦形剤を含有せしめることができる。かかる担体もしくは賦形剤としては、例えば、錠剤用の担体、賦形剤としては乳糖、でんぶん、蔗糖およびステアリン酸マグネシウムなどが挙げられる。非経口投与のための組成物としては、例えば注射剤、座剤などが挙げられ、注射剤は皮下注射剤、皮内注射剤、筋肉注射剤などの剤形を包含する。かかる注射剤は自体公知の方法、即ち、一般式（I）で表される縮合チオフェン誘導体を通常注射剤に用いられる無菌の水溶性または油性液に溶解、懸濁または乳化することによって水溶液として調製される。注射用の水性液としては生理食塩水、等張液などが挙げられ、必要により適当な懸濁化剤、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、非イオン性界面活性剤などと併用してもよい。油性液としては、ゴマ油、大豆油などが挙げられ、溶解補助剤としては安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどを併用してもよい。調製された注射液は通常適当なアンブルに充填される。本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤を上記疾患の治療または予防に用いる場合、成人一日あたりの投与量は、経口投与の場合0.1-500mg、好ましくは1-50mgであると推定される。一般式（I）で表される縮合チオフェン誘導体は低毒性物質である。

【0014】本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤は、骨形成促進活性が強いため、骨修復や骨移植の際の骨形成促進薬として骨再建用の担体に混合することもできる。例えば、一般式（I）の化合物を金属、セラミック、あるいは高分子を材料とする人工骨などに付着または含有させて用いることができる。人工骨は、それが骨欠損部に移植された際に生体組織において本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤が放出されるように表面を多

孔性にすることが好ましい。一般式（I）の化合物は、適当な分散剤、結合剤、希釈剤など（例えば、コラーゲン、生理食塩水、クエン酸溶液、酢酸溶液、ハイドロオキシアパタイト、フィブリンまたはこれらの混合液など）に分散させ、これを人工骨に塗布または含浸し、乾燥させることによって付着または含有させることができる。このような人工骨は骨欠損部に移植され、欠損部に強固に固定される。人工骨の固定化剤は、有効成分である一般式（I）で表される縮合チオフェン誘導体を、医薬として使用する際生理的に許容される分散媒、結合剤、希釈剤、骨再生に有効な他の成分（例えばカルシウム）などと混合して調製することができる。人工骨固定化剤は、これを人工骨に付着または含有させることなく、宿主の骨欠損部に移植される人工骨とその骨欠損部との間隙に充填するように用いることもできる。なお、ここで述べた非経口の組成物は、BMPファミリーなど骨形成を促進させる蛋白質を付着または含有させて用いることもできる。

【0015】

【実施例】以下に実験例および実施例を示し、本発明の細胞分化誘導因子作用増強剤の作用効果および実施態様を具体的に説明するが、これらは単なる例であって、本発明をなんら限定するものではない。

【0016】実験例1 マウス骨芽細胞株におけるアルカリ性ホスファターゼ(ALP)産生誘導

マウス由来骨芽細胞株MC3T3-E1を10%ウシ胎仔血清 (FCS: fetal calf serum) 含有 α -最小必須培地 (MEM: minimum essential medium) 中で96穴プレートに播種し (8000/well)、2日後BMP-4/7ヘテロ二量体 (特願平6-111255号に記載) を3ng/ml含むまたは含まない培地で〔表1〕に示す濃度に希釈した検体を一面に生育 (コンフルエント) した細胞に加えて72時間培養を続けた。プレートを生理食塩水で一回洗浄した後、基質溶液を加えて室温で15分間インキュベートした。0.05Nの水酸化ナトリウムを加えて反応を停止させ、405nmの吸光度を測定した。その結果、〔表1〕に示すとおり、化合物 (II) は、BMP活性即ちBMPによるALPの産生誘導を増強することが、またBMPの有無にかかわらず単独でも優れたALP産生誘導活性を有していることが証明された。

【0017】

〔表1〕

マウス骨芽細胞株(MC3T3-E1)における
アルカリ性ホスファターゼ(ALP)産生誘導

化合物(II)添加量 (μ M)	ALP 活性 ($1000 \times A_{405} \pm SD$)	
	BMP添加(3ng/ml)	BMP無添加
0	293 \pm 3	144 \pm 8
1	757 \pm 21 \uparrow	364 \pm 11 \uparrow
10	78 \pm 8 \downarrow	37 \pm 1 \downarrow

\uparrow : 統計学的に有意な増強効果が認められたもの ($p < 0.001$ vs 対照 ; t-検定)

\downarrow : 統計学的に有意な抑制効果が認められたもの ($p < 0.001$ vs 対照 ; t-検定)

【0018】実験例2 ラット副腎髄質由来細胞株にお 10 *加することにより、試料細胞の神経突起の著しい伸長が
ける神経突起の伸長能

10%FCSを添加したダルベッコ (Dulbecco) MEM中に懸濁
したPC12細胞 (ラット副腎髄質褐色細胞種 ; 2000/wel
1) を〔図1〕中に示す各種濃度のNGFおよび化合物 (I
I) を含有する検体と混合し、96穴プレートに播種した
後、3日間培養した。培養液を除き、市販キット (ディ
フクイックR、国際試薬 (株)、神戸市) を用いてヘマ
トキシリン/エオシン染色を行った。顕微鏡観察によっ
て神経突起の伸長を評価した結果を〔図1〕に示す。NG
F 10ng/ml存在下に化合物 (II) を1 μ Mまたは10 μ Mを添 * 20

観察された。即ち、NGF 10ng/ml存在下での1 μ Mまたは1
0 μ Mの化合物 (II) 添加は、NGF単独での100ng/ml処理
による効果と同等以上の効果を示し、化合物 (II) の神
経成長因子作用増強活性が認められた。

【0019】実施例1

下記に示す(1)~(6)の成分を混合して剤型形成機で1錠
当たり化合物 (II) を5mgを含有する直径6.5mmの素剤を
約1,000錠作製できる。これを下記に示す(7)~(9)の成
分で被覆し、直径6.6mmフィルムコーティング錠が得ら
れる。

(1)化合物 (II)	5g
(2)乳糖	82.5g
(3)ヒドロキシプロピルセルロース	2.8g
(4)ステアリン酸マグネシウム	0.4g
(5)ヒドロキシプロピルメチルセルロース2910	2.994g
(6)トウモロコシデンプン	19.3g
(7)マクロゴール6000	0.6g
(8)酸化チタン	0.4g
(9)二酸化鉄	0.006g

【0020】実施例2

下記に示す(1)、(3)、(4)、(5)、(6)、(7)および(8)の
成分を精製水に懸濁あるいは溶解し、下記の(2)の核粒
にコーティングし素細粒を作製できる。この素細粒上に※

30※下記に示す(9)~(11)の成分をコーティングしコーティ
ング細粒を作り、下記の(12)の成分と混合して化合物
(II) の細粒1%、約500gを作製し得る。これを500mgず
つ分包する。

(1)化合物 (II)	5g
(2)乳糖・結晶セルロース (粒)	330g
(3)D-マンニトール	29g
(4)低置換度ヒドロキシプロピルセルロース	20g
(5)タルク	25g
(6)ヒドロキシプロピルセルロース	50g
(7)アスパルテーム	3g
(8)グリチルリチン酸二カリウム	3g
(9)ヒドロキシプロピルメチルセルロース2910	30g
(10)酸化チタン	3.5g
(11)黄色三酸化鉄	0.5g
(12)軽質無水ケイ酸	1g

【0021】

【発明の効果】本発明の一般式 (I) で表される縮合チ
オフエン誘導体を含有してなる細胞分化誘導因子作用増
強剤は、例えば、強いBMP作用増強活性および骨形成促
進活性を有し、骨組織に作用して骨量と骨強度を増加さ

せる。従って、本剤は骨粗鬆症、骨折治癒促進または骨
再建促進など種々の骨疾患の治療および予防に有用であ
る。また、本剤は神経栄養因子の作用増強活性を有し、
アルツハイマー型痴呆症および一般の老人性痴呆症、運
動ニューロン障害 (筋萎縮性側索硬化症など)、糖尿病

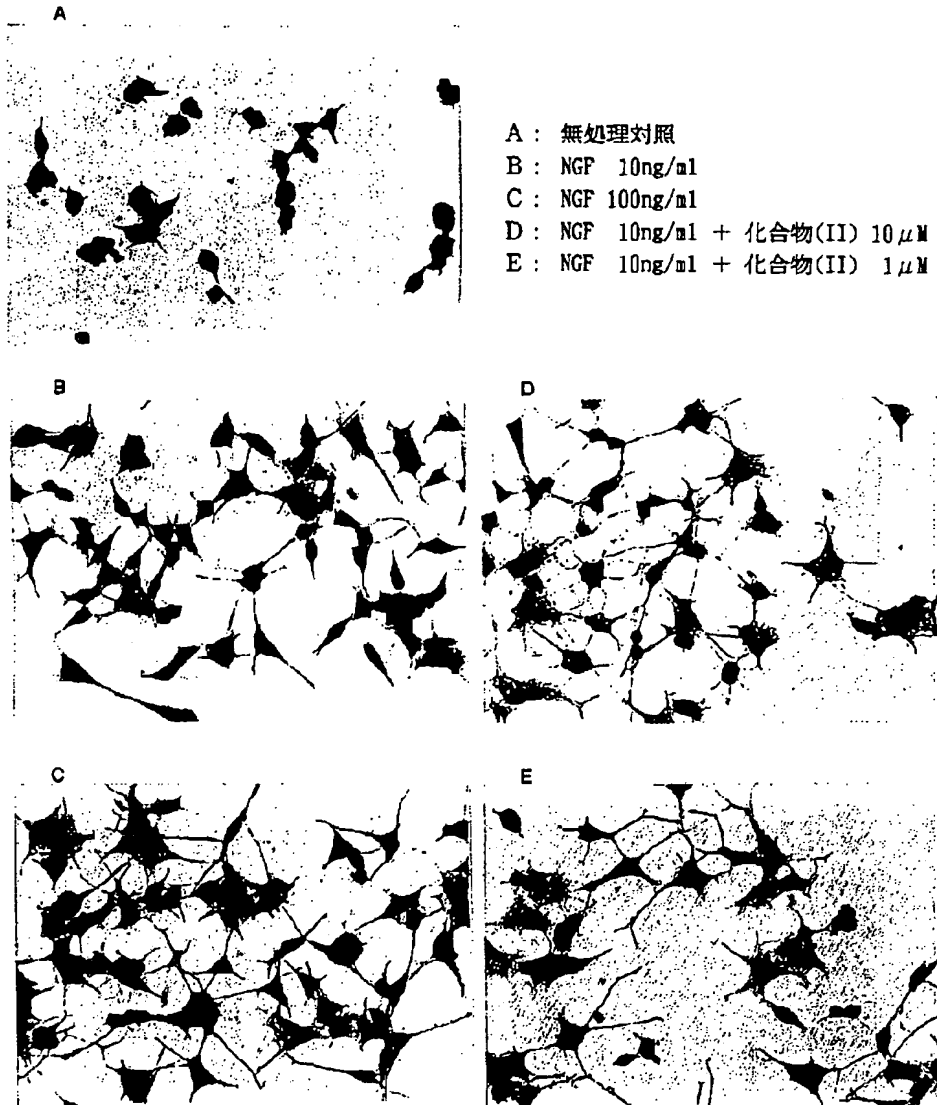
性の末梢神経障害など種々の神経性疾患の治療および予防に有用である。

【0022】

【図面の簡単な説明】

【図1】ラット副腎髄質由来細胞株における神経突起の伸長能を示す。

【図1】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

A 6 1 K 31/42

C 0 7 D 498/04

識別記号

A D S

1 0 1

庁内整理番号

F I

A 6 1 K 31/42

C 0 7 D 498/04

技術表示箇所

A D S

1 0 1